

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CAMPUS CURITIBANOS  
ALEXANDRE FRANÇA PIRES

**ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE PLANTAS MEDICINAIS SOBRE O  
DESENVOLVIMENTO DE *Fusarium verticillioides* EM SEMENTES DE MILHO  
CRIOULO**

CURITIBANOS - SC

2015

ALEXANDRE FRANÇA PIRES

**ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE PLANTAS MEDICINAIS SOBRE O  
DESENVOLVIMENTO DE *Fusarium verticillioides* EM SEMENTES DE MILHO  
CRIOULO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de graduação em Agronomia do Campus Curitibanos da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Engenheiro agrônomo.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Adriana Terumi Itako

CURITIBANOS - SC

2015

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

França Pires, Alexandre

Atividade de plantas medicinais sobre o desenvolvimento  
de *Fusarium verticillioides* em sementes de milho crioulo /  
Alexandre França Pires ; orientadora, Adriana Terumi Itako  
- Curitiba, SC, 2015.

40 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -  
Universidade Federal de Santa Catarina, Campus  
Curitiba. Graduação em Agronomia.

Inclui referências

1. Agronomia. 2. Fitopatologia. 3. Controle  
Alternativo. 4. Zea Mays. 5. *Fusarium verticillioides*. I.  
Terumi Itako, Adriana . II. Universidade Federal de Santa  
Catarina. Graduação em Agronomia. III. Título.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA**  
**Coordenação do Curso de Graduação em Agronomia**

Rodovia Ulysses Gaboardi km3  
CP: 101 CEP: 89520-000 - Curitibanos - SC  
TELEFONE (048) 3721-2178 E-mail: agronomia.cbs@contato.ufsc.br.

---

ALEXANDRE FRANÇA PIRES

**ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE PLANTAS MEDICINAIS SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE**  
*Fusarium verticillioides* **EM SEMENTES DE MILHO CRIOULO**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado ao  
Colegiado do Curso de Agronomia, do Campus  
Curitibanos da Universidade Federal de Santa Catarina,  
como requisito para obtenção do título de Bacharel em  
Agronomia.

**Orientadora: Adriana Terumi Itako**

Data da defesa: 30/06/2015

**MEMBROS COMPONENTES DA BANCA EXAMINADORA:**

*Adriana Terumi Itako*

---

**Presidente e Orientador: Adriana Terumi Itako**  
**Doutor em Agronomia**  
**Área de concentração em Fitopatologia**  
**Universidade Federal de Santa Catarina-Campus Curitibanos**

*Kaumi Iken*

---

**Membro Titular: Karine Louise dos Santos**  
**Doutor em Ciências**  
**Área de concentração em Recursos Genéticos vegetais**  
**Universidade Federal de Santa Catarina-Campus Curitibanos**

*João B. Tolentino Jr.*

---

**Membro Titular: João Batista Tolentino Júnior**  
**Doutor em Ciências**  
**Área de concentração em Irrigação e Drenagem**  
**Universidade Federal de Santa Catarina-Campus Curitibanos**

**Local: Universidade Federal de Santa Catarina**  
**Campus de Curitibanos**  
**Coordenação do Curso de Graduação em Agronomia**

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais, João Batista Pires e Rozelde França Pires que com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa da minha vida.

Agradeço minha namorada, Rosemeri Ramos da Silva, que de uma forma especial e carinhosa me deu força e coragem, me apoiando nos momentos de dificuldades.

A minha orientadora, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Adriana Terumi Itako, pela grande amizade, paciência, confiança e por tudo o que ela pode dedicar no meu aprendizado nesses últimos anos.

Agradeço a Kauê Tortato Alves, pela amizade e confiança, que me incentivou e contribuiu para que eu pudesse crescer no meio acadêmico.

Agradeço a Zaida Gasparini, pela amizade e os momentos de aprendizagem que compartilhamos.

E aos amigos e colegas, que de alguma forma estiveram e estão próximos de mim, fazendo esta vida valer cada vez mais a pena.

“Diga o que quiser da natureza material a filosofia, o que é certo é que a natureza intelectual  
detesta o vácuo; a nossa mente não pode estar vazia”

Samuel Johnson

## RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antifúngica dos extratos brutos de plantas medicinais *Allium sativum*, *Baccharis trimera*, *Baccharis uncinella* e *Rosmarinus officinalis* sobre o desenvolvimento de *Fusarium verticillioides*, na germinação, sanidade das sementes e no desenvolvimento da cultura do milho. Nos testes *in vitro* para avaliar o crescimento micelial e esporulação do fungo, os extratos nas concentrações de 0, 10, 20 e 30% foram incorporados no meio de cultura, e as medições foram realizadas diariamente até que no tratamento controle o fungo atingisse mais que 70% da placa. A contagem de conídios foi realizada com auxílio da câmara de Neubauer. Com os dados do crescimento foram calculados a Área Abaixo da Curva do Crescimento Micelial (AACCM). Verificou-se que os extratos de *Allium sativum*, *Rosmarinus officinalis* e *Baccharis trimera* tiveram efeito inibitório no desenvolvimento micelial do fungo, porém os extratos de *Baccharis trimera* e *Baccharis uncinella* não foram eficientes na inibição da esporulação. No teste de germinação e incidência, as sementes de milho crioulo da variedade Asteca foram submetidas à inoculação e tratamento (0, 10, 20 e 30%) dos extratos das plantas medicinais e fungicida carbendazim. Foi observado que na concentração de 30% o extrato de *Baccharis trimera* reduziu a incidência do patógeno, o fungicida foi eficiente, mas os outros extratos não apresentaram redução significativa na incidência do fungo. A semeadura do milho crioulo foi realizada na Estação Experimental da Universidade Federal de Santa Catarina no Campus Curitibanos. As sementes foram inoculadas e tratadas na semeadura e na fase V18, os tratamentos utilizados foram *Rosmarinus officinalis* e *Baccharis trimera* na concentração 30% e fungicida carbendazim. Foram avaliadas: a incidência da doença através de notas da escala diagramática, número de plantas, número e tamanho das espigas, peso dos grãos e teste de germinação e sanidade das sementes. Verificou-se que em todas as avaliações realizadas que os extratos de *Rosmarinus officinalis* e *Baccharis trimera*, não apresentaram efeito inibitório no desenvolvimento de *Fusarium verticillioides*. Com os resultados obtidos no trabalho, pode-se verificar o efeito fungitóxico dos extratos de *Rosmarinus officinalis*, *Allium sativum* e *Baccharis trimera* no desenvolvimento do fungo, porém, em condições de campo verificou-se que os tratamentos aplicados não apresentaram efeito inibitório desejado para o controle *Fusarium verticillioides*.

**Palavras-chave:** *Allium sativum*. *Baccharis trimera*. *Baccharis uncinella*. *Rosmarinus officinalis*. *Zea mays*. Controle Alternativo.

## ABSTRACT

This study aimed to evaluate the antifungal activity of crude extracts of medicinal plants *Allium sativum*, *Baccharis trimera*, *Baccharis uncinella* and *Rosmarinus officinalis* on the development of *Fusarium verticillioides*, during germination, seed health and the development of the corn. For *in vitro* assays for assessing the fungal mycelial growth and sporulation, the extracts of medicinal plants mentioned above at concentrations of 0, 10, 20 and 30% were incorporated into the culture medium, and daily measurements were performed until the control treatment reached more than 70 % of the plate. The spore count was performed using a Neubauer chamber. The Area Under the Curve of Mycelial Growth (AUCMG) was calculated using the growth data. It was verified that the extracts of *Allium sativum*, *Rosmarinus officinalis* and *Baccharis trimera* had an inhibitory effect on mycelial growth of the *Fusarium*, but the *Baccharis trimera* and *Baccharis uncinella* extracts were ineffective in inhibiting sporulation. In the germination and incidence test, the creole corn variety Asteca seeds were inoculated and treated with concentrations (0, 10, 20 and 30%) of extracts from medicinal plants and with the fungicide carbendazim. From the results, the samples at concentration of 30% using *Baccharis trimera* extract reduced the incidence of the pathogen, also the fungicide was efficient, but the others extracts showed no significant reduction in the incidence of the *Fusarium*. The sowing of Creole corn was conducted at the Experimental Station of the Universidade Federal de Santa Catarina Campus Curitibanos. The seeds were inoculated and treated during the sowing and V18 stage, the treatments applied were *Rosmarinus officinalis* and *Baccharis trimera* at concentration of 30% crude extract and fungicide carbendazim. Assessments: the incidence of the disease through notes of diagrammatic scale, number of plants, number and size of ears, grain weight, germination test and seed health. It was verified in each evaluations conducted that *Rosmarinus officinalis* extracts and *Baccharis trimera* have no inhibitory effect on the development of *Fusarium verticillioides*. In this study, the results obtained shown a fungitoxicity effect of the extracts of *Allium sativum*, *Rosmarinus officinalis* and *Baccharis trimera* in the development of the fungus. However, under field conditions tests it was verified that the treatments applied presented no inhibitory effect for the satisfactory control of *Fusarium verticillioides*.

**Keywords:** *Allium sativum*. *Baccharis trimera*. *Baccharis uncinella*. *Rosmarinus officinalis*. *Zea mays*. Alternative Control.



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	5
1.1 JUSTIFICATIVA	6
1.2 OBJETIVOS	5
1.2.1 Objetivo Geral	5
1.2.2 Objetivos Específicos	5
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b>	6
2.1 CULTURA DO MILHO	6
2.2 FUNGO FITOPATOGÊNICO: <i>Fusarium verticillioides</i>	7
2.3 CONTROLE DAS ESPÉCIES DO GÊNERO <i>Fusarium</i>	9
2.4 MÉTODOS ALTERNATIVOS DE CONTROLE DE DOENÇAS EM PLANTAS	10
2.5 PLANTAS MEDICINAIS NO CONTROLE DE FITOPATÓGENOS	11
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b>	13
3.1 AVALIAÇÃO SANIDADE DE SEMENTES DE MILHO E OBTENÇÃO DO FUNGO <i>Fusarium verticillioides</i>	13
3.2 OBTENÇÃO DOS EBA (EXTRATOS BRUTOS AQUOSOS)	13
3.3 AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTOS MICELIAL E CONTAGEM DOS CONÍDIOS	14
3.4 AVALIAÇÃO DA GERMINAÇÃO DAS SEMENTES INOCULADAS ARTIFICIALMENTE COM <i>Fusarium verticillioides</i> TRATADAS COM EXTRATOS VEGETAIS	14
3.5 AVALIAÇÃO DO CICLO DA CULTURA DO MILHO NO CAMPO A PARTIR DE SEMENTES INOCULADAS ARTIFICIALMENTE COM <i>Fusarium verticillioides</i> TRATADAS COM EXTRATOS VEGETAIS	15
3.6 AVALIAÇÃO DA INCIDÊNCIA DE <i>Fusarium verticillioides</i> E QUALIDADE DAS SEMENTES DE MILHO CRIOULO	16
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	17
4.1 AVALIAÇÃO DA SANIDADE DE SEMENTES	17
4.2 AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL E CONTAGEM DOS CONÍDIOS	18
4.3 AVALIAÇÃO DA GERMINAÇÃO DAS SEMENTES INOCULADAS ARTIFICIALMENTE COM <i>Fusarium verticillioides</i> TRATADAS COM EXTRATOS VEGETAIS	21
4.4 AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DA CULTURA E AVALIAÇÃO DAS SEMENTES DA VARIEDADE DE MILHO CRIOULO ASTECA	23

<b>5 CONCLUSÃO .....</b>	<b>27</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>28</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays*) é uma gramínea pertencente à família Poaceae e essa espécie ocupa grande parte das atividades agropecuárias rurais. Porém, a utilização de variedades suscetíveis, o manejo incorreto dos sistemas de plantio direto e também da irrigação, podem estar relacionados com o aumento das doenças na cultura. (CRUZ et al., 2011)

Como exemplo de espécie de fungo mais amplamente distribuído na cultura do milho pode-se citar a espécie de *Fusarium verticillioides*. Essa espécie pode causar diversos problemas como morte de plântulas, podridão de espiga, podridão de colmo, podendo levar a reduções na produtividade e na qualidade das sementes. Além de causar danos na planta, também pode causar intoxicação alimentar em animais e seres humanos, através de micotoxinas como a fumonisina. (KIMATI et al., 2005)

Há praticamente meio século, vem se utilizado com grande escala os defensivos químicos para o controle de pragas e doenças. O uso excessivo desses formulados vem causando através dos tempos danos à saúde humana e danos ambientais. Os métodos de controle alternativo têm o objetivo de controlar doenças e pragas, sem ter o mesmo efeito problemático dos defensivos agrícolas. (BETTIOL, 2015)

Um dos métodos que vem sendo utilizado é a exploração de compostos provenientes de extratos brutos ou óleos essenciais de plantas medicinais que podem induzir a resistência de plantas como podem também ter um efeito tóxico sobre o patógeno. (SCHWAN-ESTRADA e STANGARLIN, 2005)

As plantas medicinais (*Allium sativum*, *Baccharis trimera*, *Baccharis uncinella* e *Rosmarinus officinalis*) utilizadas para este trabalho para se avaliar a atividade antifúngica sobre o desenvolvimento de *Fusarium verticillioides*, estão relacionadas com a resistência a baixas temperaturas e a facilidade de se encontrar essas espécies no Planalto Serrano, no estado de Santa Catarina

## 1.1 JUSTIFICATIVA

Nos últimos anos, o controle das doenças na agricultura tem aumentado intensivamente, sendo realizado basicamente através do emprego de defensivos agrícolas, que geram altos custos e riscos ambientais (desequilíbrio ecológico) e toxicológicos (elevada concentração nos alimentos). Também tem se verificado que o uso intenso desses defensivos tem aumentado a resistência de fitopatógenos, pragas e plantas daninhas a certos produtos químicos. (TOLEDO; MARCOS FILHO, 1977)

A busca de produtos que se assemelham com os efeitos dos produtos sintéticos, pode ser encontrada nas plantas, sendo uma alternativa de interesse econômico e ecológico bastante promissor. O uso de extratos vegetais e óleos essenciais, por exemplo, têm sido fonte de inúmeras pesquisas que comprovam sua eficácia. O emprego desses extratos e óleos essenciais pode ser uma forma sustentável para o uso nas propriedades rurais.

Atualmente, tem se verificado poucos estudos sobre o uso do método de controle alternativo através de plantas medicinais sobre os fitopatógenos do gênero *Fusarium* sp., os quais podem ocasionar grandes perdas em áreas produtoras de sementes e também problemas relacionados com a intoxicação alimentar por animais e seres humanos através das micotoxinas sintetizados pelo fungo. Além de produzir micotoxinas estes fitopatógenos causam reduções no rendimento de grãos, redução do poder germinativo e do vigor das sementes.

Diante disso, o intuito deste trabalho é avaliar as propriedades fungitóxicas de plantas medicinais da região de Curitiba – Santa Catarina, como o alho (*Allium sativum*), alecrim (*Rosmarinus officinalis*), carqueja (*Baccharis trimera*) e vassoura (*Baccharis uncinella*) sobre desenvolvimento do fungo *Fusarium verticillioides* e o efeito desses extratos sobre a germinação e o desenvolvimento a campo da variedade de milho crioulo Asteca.

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Objetivo Geral

Avaliar a atividade antifúngica *in vitro* dos extratos brutos de plantas medicinais *Allium sativum*, *Baccharis trimera*, *Baccharis uncinella* e *Rosmarinus officinalis* sobre o desenvolvimento de *Fusarium verticillioides* e o efeito desses extratos sobre a germinação e o desenvolvimento a campo da variedade de milho crioulo Asteca.

### 1.2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o crescimento micelial em meio de cultura e a esporulação dos conídios em diferentes concentrações dos extratos de *Allium sativum*, *Baccharis trimera*, *Baccharis uncinella* e *Rosmarinus officinalis*.
- Avaliar a germinação de sementes de milho inoculadas artificialmente com *Fusarium verticillioides* e tratadas com os extratos das plantas medicinais;
- Avaliar os sintomas no colmo e a severidade da doença na maturação fisiológica da cultura do milho após o tratamento com extratos brutos aquosos de *Baccharis trimera* e *Rosmarinus officinalis* na concentração de 30%;
- Avaliar a qualidade das sementes após o tratamento com extratos brutos aquosos de *Baccharis trimera* e *Rosmarinus officinalis* na concentração de 30%.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 CULTURA DO MILHO

O milho é uma gramínea pertencente à família Poaceae e sua espécie é a *Zea mays* L. Todos os milhos cultivados estão incluídos nessa única espécie, e pertencem à tribo Maydeae, que possui sete gêneros, dos quais dois são nativos do hemisfério ocidental (*Zea* e *Tripsacum*) e cinco da Ásia. (MAGALHÃES; SOUZA, 2015)

Através de estudos e evidências arqueológicas acreditasse que o milho se originou e foi domesticado no continente americano, na região Mesoamérica. Foram os povos indígenas da região que iniciaram o cultivo e a domesticação dessa espécie que foi sendo disseminada por todo o continente americano. Quando o europeu chegou à América, em 1492, já encontrou diversas variedades de milho domesticada e cultivada pelos povos mesoamericanos. Plantas que se diferenciavam pelo tamanho da planta e da espiga, tipo e cor do grão e entre outros fatores morfológicos formando diversas variedades conhecidas como crioulas. (UDRY; DUARTE, 2000; SOARES, 1998)

As populações crioulas, também conhecidas como raças locais ou *landraces*, se comparadas ao milho comercial são menos produtivas, mas essas variedades apresentam teores nutricionais melhores como também variabilidade genética, e são mais resistentes e adaptadas ao ambiente de origem. (SANDRI; TOFANELLI, 2008)

A cultura do milho ocupa a posição de destaque entre as atividades agropecuárias rurais do Brasil, por ser a mais frequente nas propriedades rurais e por seu valor de produção. De acordo com o levantamento da Conab (2015), o Brasil possui o correspondente a 15,1 milhões de hectares de área plantada de milho, sendo o maior estado de área de plantada Mato Grosso que apresenta uma área de 3,2 milhões de hectares; o Estado de Santa Catarina por sua vez apresenta 411 mil hectares de área de plantada. Em relação à produção na safra 14/15, o Brasil produziu até Maio/2015, 78,9 milhões de toneladas. O maior produtor de milho no Brasil é o estado de Mato Grosso que esse ano produziu aproximadamente 18,2 milhões de toneladas de milho e o estado de Santa Catarina espera uma produção de 3,1 milhões de toneladas.

Em levantamentos da produção de milho, observa-se que não existe a separação de dados de produtividade sobre as variedades de milho crioulo em relação aos cultivares híbridos. Porém, em estudos verifica-se que algumas variedades de milho crioulo podem apresentar uma produtividade de 65% a 70% em relação ao híbrido comercial, podendo ser útil em cruzamentos

no melhoramento genético para obter características desejáveis relacionados a produção. (ARAÚJO; NASS, 2002)

O milho é considerado um alimento energético para as dietas humana e animal, devido à sua composição de altas concentrações de carboidratos (amido) e lipídeos (óleo). O óleo de milho possui uma composição de ácidos graxos, que tem importância na dieta humana, que auxilia na prevenção de doenças cardiovasculares e no combate ao colesterol sérico elevado. Outro importante aspecto dos lipídeos no milho está relacionado ao conteúdo dos tocoferóis (vitamina E) e dos carotenoides. Essas substâncias são importantes na coloração da carne de aves e gema dos ovos, propriedades de importância comercial na cadeia produtiva de aves. (PAES, 2006)

Segundo Paes (2006), a utilização do milho no mundo vai desde a alimentação humana e animal, se estendendo as indústrias químicas, farmacêuticas, de papéis, têxtil, entre outras de aplicação ainda mais nobres (Exemplos: cerveja, fibra de vidro, whisky e outros).

Com a expansão da cultura do milho para novas áreas houve a contribuição para o aumento do potencial de inóculo de patógenos. A utilização do sistema plantio direto, associado ao seu manejo incorreto, ou seja, sem levar em consideração a necessidade de se associar a prática de rotação de culturas, também contribuíram para o aumento na incidência e severidade de doenças, principalmente doenças fúngicas. Além desses fatores, o manejo incorreto nos sistemas de irrigação, as aberturas de novas áreas e a utilização de variedades suscetíveis podem estar relacionadas ao aumento da severidade das doenças na cultura do milho. (CRUZ et al., 2011)

O principal aumento da severidade de doenças ocorre no início da semeadura, Catão et al. (2013), em um estudo para avaliar a qualidade sanitária de sementes de variedades crioulas de milho no pré e pós-armazenamento, verificaram que as variedades Asteca, Amarelinho, Amarelão, Cateto Crioulo e outros; apresentaram altas incidências de fungos fitopatogênicos, tendo como principais espécies *Fusarium verticillioides*, *Penicillium* sp. e *Aspergillus* sp.

## 2.2 FUNGO FITOPATOGÊNICO: *Fusarium verticillioides*

Nos últimos anos tem se tornado evidente o fato de uma variedade milho recém-lançada estar infectada por doenças no início do cultivo. Muitas dessas doenças são transmitidas pelas próprias sementes que podem carregar consigo fungos e bactérias que reduzem a germinação e provocam a formação de plântulas debilitadas, praticamente inviáveis. Como consequência há

prejuízos quanto à qualidade e quantidade do produto colhido. (TOLEDO; MARCOS FILHO, 1977)

Segundo Hirooka (2000 apud BERND, 2006) o *Fusarium* sp. é um gênero de fungos amplamente disseminado em plantas nativas e cultivadas, mas a importância se deve à atuação como patógeno primário de milho a nível cosmopolita, sendo responsável pela perda econômica de centenas de milhões de dólares.

Segundo Leslie e Summerell (2006), um estudo realizado pela *American Phytopathological Society* (APS) revelou que existem entre 81 a 101 plantas de interesse econômico estão associadas como hospedeiros de *Fusarium* sp.

Os fungos do gênero *Fusarium* são conhecidos como um dos maiores problemas na agricultura e, encontram-se entre os mais importantes patógenos de plantas do mundo. Sementes infectadas com *Fusarium* sp., possuem redução na qualidade e no valor econômico, além de contribuir para perdas nutricionais da semente, induzindo doenças e redução da performance em humanos e animais. (BERND, 2006)

Segundo Munkvold (2003), as principais e mais importantes espécies do gênero *Fusarium* da cultura do milho são conhecidos como *Fusarium verticillioides* e *Fusarium graminearum*. Essas espécies podem causar diversos problemas como podridão radicular, morte de plântulas, podridão de espiga, podridão de colmo, podendo levar a reduções na produtividade e qualidade de grãos. Munkvold e Desjardins (1997) descrevem que ambas as espécies são capazes de produzir micotoxinas, sendo que as fumonisinas são mais comumente associadas com *F. verticillioides* e desoxinivalenol e nivalenol com *F. graminearum*.

O *Fusarium verticillioides* apresenta inicialmente culturas de micélio de coloração branca, mas pode desenvolver pigmentos violetas ou alaranjado com a idade. Os macroconídios podem ser raros em alguns isolados e microconídios são ovais em forma de taco com uma base achatada não apresentando septos. (LESLIE & SUMMERELL, 2006)

Segundo Wordell Filho e Elias (2010), os sintomas de *F. verticillioides* no milho iniciam com a alteração da cor externa do colmo, e as plantas infectadas apresentam no interior do colmo coloração rosa. Ocorre o apodrecimento que afeta as raízes, a base da planta e os entrenós inferiores, podendo levar à quebra do colmo e à maturação prematura. Os sintomas de *Fusarium verticillioides* na espiga, podem ser observados na base, podendo manifestar em sementes isoladas ou em grupos de sementes infectadas. A distribuição dessas sementes infectadas está relacionada à infecção do fungo pelo canal dos estigmas ou a associação de injúrias provocadas por insetos ou danos mecânicos.



Segundo Norred e Voss (1994 *apud* FIGUEIRA et al., 2003) um dos principais problemas dos fungos do gênero *Fusarium* é a micotoxina fumonisina. A fumonisina causa perdas econômicas na avicultura, suinocultura e equinocultura, além de prováveis danos à saúde humana.

Segundo Mallmann, Santurio e Dilkin (1999), a fumonisina pode causar diversas enfermidades nos equinos, dentre elas se encontra leucoencefalomalácia que pode ser letal para o animal.

Segundo Dilkin et al. (2004) suínos que consomem pelo menos 30 mg de FB<sub>1</sub>.kg<sup>-1</sup> na ração apresentam edema pulmonar após 20 dias, culminando com a morte dos suínos intoxicados e diminuição da conversão alimentar e ganho de peso. Os órgãos mais atingidos são o pulmão, o fígado e o coração.

Marijanovic et al. (1991), relata que em aves a fumonisina pode causar diarreia, perda de peso e desenvolvimento corporal, aumento hepático e imunossupressão.

Estudos realizados pela IARC (*International Agency for Research on Cancer*) citam que em locais na África do Sul e China, onde houve ingestão de alimentos contaminados com fumonisina, pessoas apresentaram câncer no esôfago. (IARC, 2015)

## 2.3 CONTROLE DAS ESPÉCIES DO GÊNERO *Fusarium*

A agricultura é praticada pela humanidade há mais de dez mil anos, e o uso intensivo de defensivos agrícolas para o controle de doenças das lavouras existe há pouco mais de meio século. Diversas políticas foram implementadas em todo o mundo para expandir e assegurar este mercado. A pesquisa agropecuária voltou-se para o desenvolvimento de sementes selecionadas para responder a aplicações de adubos químicos e defensivos em sistemas de monoculturas altamente mecanizados. (LONDRES, 2011)

Nos últimos anos, a sociedade vem se preocupando com o uso intensivo e indiscriminado de produtos químicos que causam diversos problemas ao meio ambiente e ao homem, como a contaminação de águas, solos, animais e alimentos; a intoxicação de agricultores; a eliminação de microrganismos responsáveis pela degradação da matéria orgânica ou de organismos utilizados em programas de controle biológico. Também se verifica uma crescente resistência de fitopatógenos, pragas e plantas daninhas a produtos químicos. (SPADOTTO et al., 2004; LONDRES, 2011)

Segundo a AGROFIT (2015), os principais formulados químicos que são utilizados para o controle de *F. verticillioides* são de princípio ativo: captana, carbendazim, fludioxonil e tiram. Pereira (1986 *apud* VON PINHO et al., 1995) menciona que os formulados com o princípio ativo captana são os produtos mais amplamente utilizados pelas empresas produtoras no tratamento de sementes de milho para controle de doenças do gênero *Fusarium*.

## 2.4 MÉTODOS ALTERNATIVOS DE CONTROLE DE DOENÇAS EM PLANTAS

Segundo Bettiol (2015), a criação de métodos alternativos para o controle de doenças de plantas tem por finalidade oferecer alternativas para diminuir a dependência dos defensivos agrícolas e contribuir para uma prática de uma agricultura que seja mais adequada às novas exigências de qualidade ambiental e de qualidade de vida da sociedade moderna.

Segundo Venzon, Júnior e Pallini (2006), o controle alternativo pode ser entendido como a integração de medidas ambientais, visando à redução de doenças e ao aumento da produção, da produtividade e da qualidade dos produtos agrícolas. Existem diversos métodos alternativos de controles dentre eles o controle biológico, físico, resistência genética, etc.

Atualmente, um dos métodos que vem crescendo e expandindo-se comercialmente é o método alternativo de controle biológico. Segundo Grigoletti Júnior, Santos e Auer (2000, pg. 2), descrevem o controle biológico como:

O controle biológico visa manter, através de certas práticas, um equilíbrio no agroecossistema, de modo que o hospedeiro, na presença do patógeno, não sofra danos significativos, em função da ação controladora dos organismos não patogênicos do sistema.

Em um estudo realizado por Louzada et al. (2009), avaliaram-se o controle biológico com *Trichoderma* sp. sobre o fungo do gênero *Fusarium* sp., foram realizados testes com 230 espécies de *Trichoderma* somente 50 espécies inibiram o crescimento do fungo do gênero *Fusarium*. O controle ocorreu através do enrolamento das hifas do *Fusarium* por *Trichoderma* causando uma interação de competição desses microrganismos, causando inibição.

Outro método de controle comum é o método físico, que envolve processos como a refrigeração, solarização, radiação e outros. Segundo Tanaka (2001), em um experimento realizado com *Fusarium moniliforme* (sin. *F. verticillioides*) através do armazenamento em câmara fria e outra em temperatura ambiente, resultou na eficiência do controle físico em baixas

temperaturas, em relação ao outro tratamento. Porém, não ocorreu eliminação total dos patógenos em baixas temperaturas, esse controle físico somente diminui o seu crescimento e disseminação.

O controle alternativo pelo uso das plantas medicinais para o controle de doenças de plantas, consiste na utilização do extrato bruto ou óleo essencial obtido através de plantas na qual apresentam ação fungitóxica, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, indicando a presença de compostos com característica elicitora. (STANGARLIN et al., 1999; SCHWAN-ESTRADA e STANGARLIN, 2005)

Dentre todos os métodos alternativos de controle, a utilização de extratos e óleos essenciais de plantas medicinais pode ser uma opção viável, em relação do ponto de vista econômico e principalmente ambiental. (RODRIGUES et al., 2006)

## 2.5 PLANTAS MEDICINAIS NO CONTROLE DE FITOPATÓGENOS

Segundo a OMS (1998 *apud* VEIGA JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005), define as plantas medicinais como todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos. As plantas com fins medicinais são amplamente utilizadas para tratamento, cura e prevenção de doenças e são uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade.

As plantas medicinais produzem grande quantidade de substâncias biologicamente ativas, ou seja, substâncias que influenciam de alguma maneira na alteração metabólica de um determinado organismo. Essas substâncias podem ter três atividades, do ponto de vista fitossanitário: pode ter atividade antimicrobiana, onde vai ocorrer a inibição do crescimento micelial, da germinação de esporos ou pela multiplicação das bactérias ou outros fitopatógenos; atividade de induzir a resistência, pois existem moléculas bioativas capazes de induzir ou ativar os mecanismos de defesa da planta; e também os chamados “bioestimulantes” do crescimento da planta. (STADNIK; TALAMINI, 2004)

Pesquisas relacionadas ao uso de extratos e/ou óleos essenciais tem demonstrado a viabilidade de utilização destes produtos naturais para o controle de doenças de plantas. Extratos como o de *Ruta graveolens*, *Baccharis trimera* e *Ocimum basilicum* tiveram efeitos significativos na inibição do desenvolvimento de *Sclerotinia rofsii*, *Alternaria alternata*, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora* sp. e *Colletotrichum graminicola* (STANGARLIN et al., 1999).

Raja e Kurucheve (1998) e Singh e Rai (2000) verificaram que o extrato de *Curcuma longa* inibiu o crescimento micelial de *Fusarium udum* (Berk.) Wollenw e a germinação *in vitro* de escleródios de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid, respectivamente.

Itako et al. (2008) utilizando as plantas medicinais *Artemisia camphorata*, *Cymbopogon citratus* e *Rosmarinus officinalis* no controle fúngico de *Alternaria solani* causador da doença pinta preta no tomateiro, verificaram *in vitro* que com o aumento das concentrações de extratos brutos aquosos ocorreu diminuição da esporulação e germinação dos conídios.

Bonett et al. (2012), descrevem que o óleo essencial extraído *Baccharis trimera* e o extrato etanólico *Baccharis dracunculifolia*, apresentaram inibição no crescimento do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, mostrando eficiência na inibição do crescimento.

Uma espécie de planta largamente utilizada e estudada na terapêutica humana e que apresenta resultados promissores também como produto fitossanitário natural é o *Allium sativum*. A extração das substâncias do bulbo, especialmente a alicina ativa ações de inseticida, repelente, bactericida, fungicida e nematicida do extrato de *A. sativum*. (STADNIK; TALAMINI, 2004)

Um estudo relata a influência de diferentes concentrações de extratos de *A. sativum* e *Cymbopogon citratus* no crescimento vegetativo de *Fusarium proliferatum*, onde foram observadas diferenças na velocidade do crescimento e no diâmetro máximo das colônias. (SOUZA; ARAÚJO; NASCIMENTO, 2007)

Em trabalhos *in vitro* o extrato bruto aquoso de *Rosmarinus officinalis* também conhecido popularmente como alecrim, apresentou 54% de inibição sobre o crescimento de *Exserohilum turcicum*. (SCAPIN et al., 2010)

Fonseca et al., (2015), observou que o efeito do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* é mais eficiente na redução do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii* e *Sclerotinia minor*, em comparação com os óleos de *Schinus terebinthifolius* e *Porophyllum ruderale*.

A ideia geral do controle alternativo utilizando plantas medicinais é a utilização de óleos essenciais ou do extrato bruto, podendo ser considerada uma tecnologia viável para pequenos produtores rurais. Além disso, o agricultor terá a sua disposição as plantas medicinais que poderão ser comercializadas ou utilizadas com outras finalidades. (STANGARLIN et al., 1999)

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 AVALIAÇÃO SANIDADE DE SEMENTES DE MILHO E OBTENÇÃO DO FUNGO *Fusarium verticillioides*

A análise sanitária das sementes e o isolamento do fungo *F. verticillioides* foi realizado com sementes de milho crioulo Asteca cedido no município de Frei Rogério.

Para realização da análise sanitária das sementes de milho crioulo seguiu-se o procedimento descrito no Manual de Análise Sanitária de Sementes (BRASIL, 2009), onde foi avaliado a presença dos patógenos nas sementes de milho. O teste foi realizado em caixas plásticas transparentes do tipo gerbox, onde foi adicionado três folhas de papeis germitest. As sementes foram depositadas sobre as folhas, sendo utilizadas 20 sementes por caixa. Em seguida as amostras foram incubadas na temperatura de 25°C e fotoperíodo 12 horas por um período de sete dias. Após, as sementes foram examinadas individualmente com auxílio de microscópio estereoscópio e realizada uma avaliação quantitativa dos patógenos presentes nas sementes de milho Asteca.

As sementes de milho que apresentaram sinais de presença de *F. verticillioides* foram submetidos a isolamento do patógeno. Após a obtenção do isolado, o mesmo foi cultivado em meio de cultura BDA (Batata, Dextrose e Ágar) e mantido a 25°C e fotoperíodo de 12 horas.

#### 3.2 OBTENÇÃO DOS EBA (EXTRATOS BRUTOS AQUOSOS)

As plantas *Rosmarinus officinalis*, *Baccharis trimera* e *Baccharis uncinella* foram obtidas da Horta de Plantas Medicinais e no fragmento de Floresta Ombrófila Mista localizados na Universidade Federal de Santa Catarina – Campus Curitibanos. O *Allium sativum* foi adquirido de áreas produtoras da região de Curitibanos-SC.

As folhas frescas das plantas medicinais e os bulbilhos de *A. sativum* (100 g/1000 mL) foram triturados em caldo de batata por 3 min. em liquidificador, separadamente. Os homogenatos resultantes foram filtrados em gaze, obtendo-se o extrato aquoso bruto. Cada extrato bruto foi testado individualmente, nas concentrações de 0, 10, 20 e 30 %. Nas avaliações de crescimento micelial e contagem dos conídios, os extratos brutos aquosos das plantas medicinais foram autoclavados.

### 3.3 AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTOS MICELIAL E CONTAGEM DOS CONÍDIOS

Os extratos brutos obtidos conforme o item 5.2 foram incorporados ao meio de cultura nas devidas concentrações e distribuídos em placa de Petri. Após a sua solidificação, um disco de micélio (5 mm de diâmetro) de *F. verticillioides*, com 10 dias de idade, foi repicado para o centro de cada placa, que foram vedadas e incubadas em câmara de crescimento.

As avaliações foram realizadas diariamente, através da medição do diâmetro das colônias previamente marcadas na parte externa do fundo das placas (média de duas medidas diametralmente opostas), cada placa correspondeu a uma repetição. As medidas foram efetuadas, até que o tratamento controle o fungo atingisse mais que 70% da placa. Para o cálculo da Área Abaixo da Curva de Crescimento Micelial (AACCM) foi utilizada a fórmula descrita por Medeiros, Viana e Albuquerque (2012).

A avaliação de esporulação dos conídios de *F. verticillioides* foi realizada utilizando a câmara de Neubauer. (ALFENAS; MAFIA, 2007). A contagem foi feita via uma suspensão de conídios obtidos das placas de Petri do experimento da avaliação do crescimento micelial. Foram adicionados 10 mL de água destilada nas colônias, em seguida a colônia foi raspada com auxílio da alça de Drigalski e a suspensão foi filtrada em gaze. A contagem dos conídios foi realizada em câmara de Neubauer com auxílio de um microscópio óptico.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) utilizando quatro plantas medicinais, quatro doses e cinco repetições. Cada parcela foi constituída por uma placa de Petri. Os dados foram submetidos à análise de variância, e em seguida, análise de regressão para as doses dos extratos brutos aquosos a 1% de probabilidade.

### 3.4 AVALIAÇÃO DA GERMINAÇÃO DAS SEMENTES INOCULADAS ARTIFICIALMENTE COM *Fusarium verticillioides* TRATADAS COM EXTRATOS VEGETAIS

Para avaliar a germinação das sementes, as mesmas foram desinfestadas em uma solução de hipoclorito de sódio 1% por 3 minutos. Após, as sementes foram tratadas com as concentrações de cada extrato em um período de 10 minutos, e em seguida houve a imersão das sementes na suspensão de conídios de *F. verticillioides* ( $10^6$  conídios /mL) por 10 minutos.

Além dos extratos obtidos conforme o item 5.2., foi utilizado um tratamento com fungicida com princípio ativo carbendazim na dose de 100 mL/100 Kg de sementes.

Após os tratamentos das sementes foi realizado o teste padrão de germinação em caixas de plástico transparentes tipo gerbox, onde cinco amostras (repetições) de 20 sementes, por tratamento, foram semeadas igualmente espaçadas sobre três folhas de papel tipo germitest, as quais foram embebidas em água destilada. Em seguida, as caixas gerbox foram colocadas na câmara crescimento, com temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas. A contagem de sementes germinadas e mortas foram realizadas no 7º dia (BRASIL, 2009).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) utilizando quatro plantas medicinais e quatro doses, mais um fungicida e cinco repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância, e em seguida, submetidas ao teste de Tukey a 1% de probabilidade.

### 3.5 AVALIAÇÃO DO CICLO DA CULTURA DO MILHO NO CAMPO A PARTIR DE SEMENTES INOCULADAS ARTIFICIALMENTE COM *Fusarium verticillioides* TRATADAS COM EXTRATOS VEGETAIS

Para a avaliação do desenvolvimento da cultura do milho no campo, foram usadas sementes de milho crioulo da variedade Asteca, que foram desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio 1% por 3 minutos, tratadas com os extratos de *B. trimera* e *R. officinalis* na concentração de 30%, conforme descrito no item 5.4, e inoculadas artificialmente com *F. verticillioides*.

A semeadura do milho crioulo foi feita na Estação Experimental da Universidade Federal de Santa Catarina no Campus de Curitibanos, onde foram feitas parcelas com 35 plantas, seguindo o espaçamento entre linhas de 0,80 m e o espaçamento entre plantas de 0,20 m. Cada parcela foi constituída de plantas tratadas com a mesma concentração de extrato. A semeadura foi feita manualmente com 4 sementes por cova.

Aos 17 e 159 DAS (Dias Após a Semeadura), foi realizado a contagem do número de plantas, para verificar-se o efeito dos tratamentos no período próximo a semeadura e na colheita. Quando ocorreu a formação da espiga no estado vegetativo V18 (Período da emissão dos estilo-estigmas), as mesmas foram tratadas com os extratos de *B. trimera* e *R. officinalis* (30%) pelo método de aspersão, em seguida foram aspergidos nos estilo-estigmas de cada espiga formada, uma solução de suspensão de conídios de *F. verticillioides* ( $10^6$  conídios /mL).

Na maturidade fisiológica do milho crioulo, foi feita a retirada de todas as espigas, que foram medidas (altura x largura) e também foram contabilizadas as espigas sadias e as espigas que apresentaram sintomas de *F. verticillioides*. E também foi realizado o corte dos colmos para se avaliar a severidade da podridão do colmo causado pelo fungo *F. verticillioides*. Foi feito o corte longitudinal dos colmos dos dois entrenós acima do solo e em seguida foi utilizada a escala diagramática para se estimar a severidade da doença no colmo da cultura. Foi utilizada a escala diagramática para a cultura de cana-de-açúcar elaborado por Giglioti e Canteri (1998), na qual foi adaptada para a cultura do milho.

O delineamento experimental foi por blocos casualizado (DBC) com quatro tratamentos constituída de extrato de *R. officinalis* a 30%, extrato de *B. trimera* a 30%, fungicida carbendazim (dose de 100 mL/100 Kg de sementes) e testemunha (somente com inoculação) e cinco repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância, e em seguida, submetidas ao teste de Tukey a 1% de probabilidade.

### 3.6 AVALIAÇÃO DA INCIDÊNCIA DE *Fusarium verticillioides* E QUALIDADE DAS SEMENTES DE MILHO CRIOULO

Foram avaliadas a incidência do patógeno e o efeito na qualidade das sementes de milho após a realização dos tratamentos realizados no item 5.5. Na avaliação foi medido a massa de sementes contaminadas, massa de sementes não contaminados, massa total e massa de 100 sementes e a análise sanitária de sementes, seguindo a metodologia descrita no item 5.1 e para avaliação da qualidade das sementes de milho foram realizados testes de germinação.

O delineamento experimental foi por blocos casualizado (DBC) com três tratamentos constituída de extrato de alecrim 30%, extrato de carqueja 30%, fungicida carbendazim (dose de 100 mL/100 Kg de sementes) e testemunha (somente com inoculação) e cinco repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância, e em seguida, submetidas ao teste de Tukey a 1% de probabilidade.

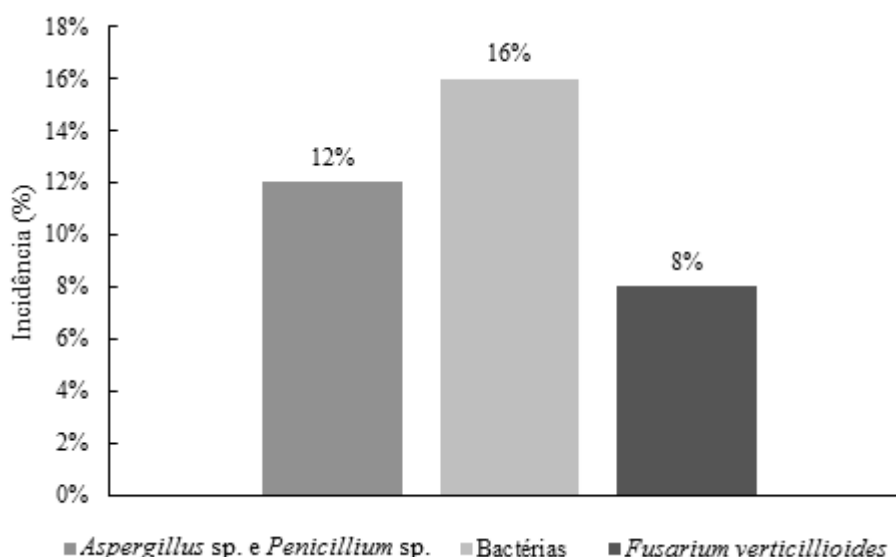


## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 AVALIAÇÃO DA SANIDADE DE SEMENTES

Na análise inicial da sanidade das sementes, foram identificados nas sementes de milho crioulo, os fungos *F. verticillioides*, *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp. e bactérias (não identificadas). Na Figura 1, observou-se que as sementes apresentaram maior incidência de bactérias, sendo que aproximadamente 12 % das sementes apresentaram incidência de *Penicillium* sp. e *Aspergillus* sp.. Os fungos citados estão classificados como grãos mofados, que segundo Brasil (2011) são caracterizados por sementes que apresentam contaminação por fungos visíveis a olho nu, independentemente do tamanho da área atingida e apresentam coloração esverdeada ou azulada. Na avaliação da sanidade das sementes, verificou-se o crescimento de *F. verticillioides*, um fungo que se classifica no grupo dos grãos ardidos. Esse fungo é de extrema importância, pois o mesmo associado com a semente dependendo das condições ambientais pode favorecer a produção de micotoxinas que podem causar danos à saúde humana e animal. No milho, essa doença alojada na semente pode causar podridões, e no desenvolvimento da cultura do milho pode causar a morte de plântulas e podridões radiculares e no colmo, o que leva a formação de lavouras com baixa produtividade.

Figura 1 – Análise Quantitativa da Sanidade de Sementes de Milho Crioulo Asteca



A incidência desses fungos e bactérias estão principalmente relacionados com a temperatura de armazenamento e o momento em que foi realizado a colheita das espigas, que podem ter afetado diretamente na umidade das sementes o que favoreceu o crescimento desses patógenos nas sementes analisadas.

## 4.2 AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL E CONTAGEM DOS CONÍDIOS

Os resultados obtidos no presente trabalho, para avaliar o efeito dos extratos brutos aquosos das plantas medicinais no crescimento micelial do fungo *F. verticillioides* utilizando doses crescentes de *R. officinalis*, *A. sativum*, *B. trimera* e *B. uncinella* estão apresentados na Tabela 1.

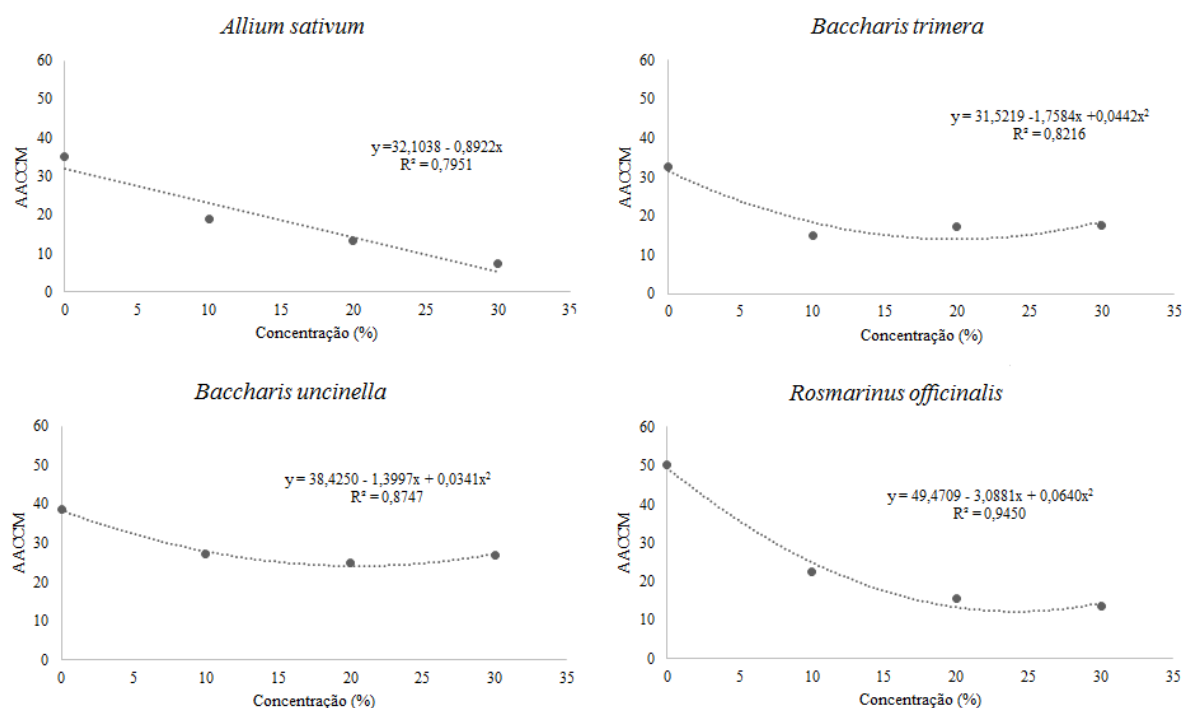
Tabela 1 - Área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) do fungo *F. verticillioides* tratados com doses crescentes de EBAs (Extratos Brutos Aquosos) de plantas medicinais.

Concentração (%)	Extratos Brutos Aquosos (EBAs)			
	<i>R. officinalis</i>	<i>A. sativum</i>	<i>B. trimera</i>	<i>B. uncinella</i>
0	50,27	35,20	32,62	38,65
10	22,60	19,02	15,05	27,17
20	15,71	13,25	17,35	24,77
30	13,66	7,39	17,48	26,96
<b>Teste F</b>	<b>125,40*</b>	<b>22,07*</b>	<b>80,89*</b>	<b>39,97*</b>
<b>CV%</b>	<b>13,21</b>	<b>30,44</b>	<b>9,73</b>	<b>7,54</b>

\*teste F significativo ao nível de 1% de probabilidade. <sup>NS</sup> não significativo

Através da regressão (Figura 2), pode-se observar que em todos os extratos apresentaram diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade. Sendo que no extrato de *A. sativum* quando se aumentava a concentração do extrato bruto, ocorria uma redução na AACCM de 0,90. E nos outros extratos, verificou-se que o *R. officinalis* teve a maior inibição na concentração de 24% com redução de 75,32% no crescimento micelial, enquanto que na *B. trimera* na concentração de 20% houve uma redução de 55,50% e na concentração de 20% do extrato de *B. uncinella* uma redução de 23,64% do crescimento micelial em relação à testemunha.

Figura 2 - Área abaixo da curva de crescimento micelial de *Fusarium verticillioides* tratado com doses crescentes de Extratos Brutos Aquosos.



Segundo Fabri et al. (2011), extratos de plantas da família Asteraceae, apresentam substancias antimicrobianas que favorecem a inibição do desenvolvimento dos fungos e das bactérias. A ação antifúngica pode ser observada na Figura 2, onde as plantas *B. trimera* e *B. uncinella* inibiram o crescimento micelial do *F. verticillioides*.

Os produtos testados influenciaram no desenvolvimento micelial de *F. verticillioides*, isto se deve aos compostos secundários encontrados nas plantas medicinais. Segundo Venturoso et al. (2011), esses compostos antimicrobianos pertencem a várias classes de substâncias químicas, como alcalóides, lignanas, flavonóides, cumarinas, benzenóides, esteroides e entre outras.

Segundo Lorenzi e Matos (2008), os extratos de *A. sativum* e *R. officinalis* são explorados na farmacologia para tratamentos, por possuírem substancias antifúngicas e antimicrobianas na saúde humana e o *R. officinalis* é utilizado para controlar bactérias do gênero *Staphylococcus* e *Monilia*. No controle de doenças de plantas, é expressiva a utilização de extrato de *A. sativum* para o controle de diversas doenças. Venturoso et al. (2011), cita que a utilização do extrato de *A. sativum* na concentração de 20%, favorece a inibição no desenvolvimento micelial dos fungos *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Colletotrichum* sp., *Phomopsis* sp., *Fusarium solani* e *Cercospora kikuchii*.

O efeito fungitoxidade do extrato de carqueja no crescimento micelial *Colletotrichum gloeosporioides*, foi observado por Milanesi et al. (2009), após 48 horas da instalação do experimento onde houve redução de 25,33% no crescimento micelial na concentração de 20%.

Tabela 2 – Contagem de conídios (esporos/ $\mu$ L) do *F. verticillioides* tratados com doses crescentes de Extratos Brutos Aquosos de plantas medicinais.

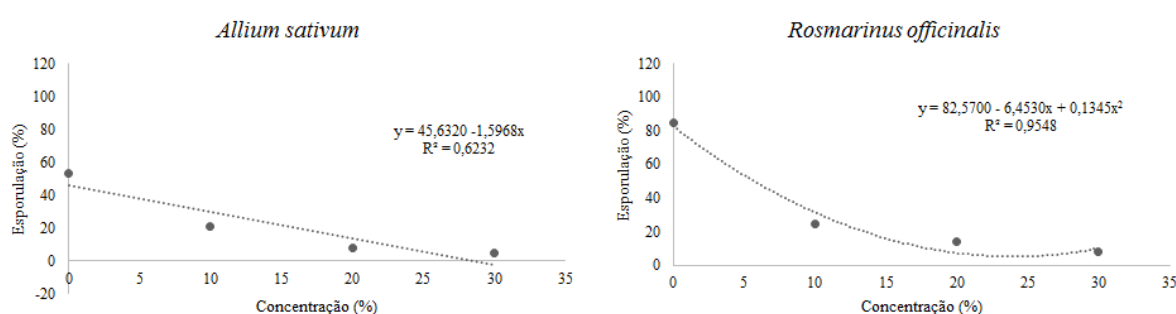
Concentração (%)	Extratos Brutos Aquosos (EBAs)			
	<i>R. officinalis</i>	<i>A. sativum</i>	<i>B. trimera</i>	<i>B. uncinella</i>
0	84,80**	53,44	86,24	61,92
10	24,80	20,80	29,76	97,92
20	14,00	8,00	61,44	101,56
30	7,80	4,48	61,12	114,24
<b>F</b>	<b>272,66*</b>	<b>8,91*</b>	<b>3,75<sup>NS</sup></b>	<b>1,23<sup>NS</sup></b>
<b>CV%</b>	<b>14,57</b>	<b>77,07</b>	<b>44,80</b>	<b>48,23</b>

\*teste F significativo ao nível de 1% de probabilidade. <sup>NS</sup> não significativo.

\*\*Valores em (esporos/ $\mu$ L) /1000

O efeito inibitório na esporulação do *F. verticillioides* ocorreu somente nos extratos de *A. sativum* e *R. officinalis*, sendo que apresentaram diferença significativa a 1% de probabilidade (Tabela 2). Os extratos de *B. trimera* e *B. uncinella* não apresentaram diferença significativa a 1% de probabilidade em relação à testemunha.

Figura 3 - Regressão para esporulação (%) de *Fusarium verticillioides* tratado com doses crescentes (0, 10, 20 e 30%) de Extratos Brutos Aquosos.



Em relação ao extrato de *R. officinalis* verificou-se que a equação ajustada foi a polinomial quadrática, e para o extrato de *A. sativum* a equação ajustada foi a equação linear, conforme a Figura 3, verificou-se com o aumento da concentração dos extratos brutos ocorreu uma redução na esporulação do fungo *F. verticillioides*.

Como observado na avaliação de crescimento micelial verificou-se que o extrato de *R. officinalis* na concentração de 24% inibiu em 93,74% a produção de conídios, quando

comparada à testemunha e o extrato de *A. sativum* quando se aumentava a concentração se reduzia 1,59 % da esporulação de conídios.

Em um trabalho semelhante realizado por Marcondes et al. (2014), concluíram que o extrato de *A. sativum* a 20% proporcionou inibição tanto no crescimento micelial e também na produção e germinação de conídios no desenvolvimento dos fungos de *Colletotrichum gloeosporioides* e de *Fusarium moniliforme*. Segundo Itako et al. (2008), para o extrato de *R. officinalis*, a partir da concentração de 10% se verificou a redução de 78,9% na esporulação de *Alternaria solani*.

#### 4.3 AVALIAÇÃO DA GERMINAÇÃO DAS SEMENTES INOCULADAS ARTIFICIALMENTE COM *Fusarium verticillioides* TRATADAS COM EXTRATOS VEGETAIS

Na tabela 3 estão apresentados os resultados em relação à germinação da semente e incidência do fungo após os tratamentos com os extratos e o fungicida. Os extratos de *R. officinalis*, *B. trimera*, *B. uncinella* e carbendazim não afetaram a germinação das sementes, porém no experimento para se avaliar o efeito do extrato de *A. sativum* verificou-se que houve comprometimento da germinação das sementes, sendo que o local onde as sementes estavam armazenadas afetaram de alguma forma as mesmas. Já incidência do fungo não foi afetada pelos extratos, ou seja, nessas condições os extratos não inibiram o desenvolvimento do mesmo.

Tabela 3 – Efeito na germinação (G) e na Incidência (I) de *Fusarium verticillioides* em sementes tratadas com Extratos Brutos Aquoso

Concentração (%)	Extratos Brutos Aquosos (EBAs)							
	<i>R. officinalis</i>		<i>Allium sativum</i>		<i>B. trimera</i>		<i>B. uncinella</i>	
	G (%)	I (%)	G (%)	I (%)	G (%)	I (%)	G (%)	I (%)
<b>Carbendazim</b>	89 a	1 a	31 a	0 a	61 bc	3 a	95,5 a	30 a
<b>0</b>	82 a	65 b	66 a	74 b	79 bc	100 c	93,5 a	72,5 b
<b>10</b>	79 a	97 b	48 a	94 c	59 a	99 c	96,5 a	83,5 b
<b>20</b>	78 a	95 b	38 a	97 c	55 a	99 c	93 a	90 b
<b>30</b>	70 a	100 b	44 a	99 c	89 b	75 b	96 a	85 b
<b>F</b>	<b>1,78<sup>NS</sup></b>	<b>35,16*</b>	<b>1,83<sup>NS</sup></b>	<b>399,02*</b>	<b>7,08*</b>	<b>370,25*</b>	<b>1,03<sup>NS</sup></b>	<b>53,81*</b>
<b>CV %</b>	<b>14,46</b>	<b>22,08</b>	<b>47,93</b>	<b>6,44</b>	<b>17,94</b>	<b>6,45</b>	<b>3,23</b>	<b>9,23</b>

\*teste F significativo ao nível de 1% de probabilidade. NS não significativo

Através dos dados obtidos, verificou-se que o extrato de *B. trimera*, na concentração de 30% apresentou melhores resultados comparados aos outros tratamentos, nessa concentração reduziu-se 25% de incidência comparada a testemunha.

Observou-se também o efeito do carbendazim, pois em todos os tratamentos esse fungicida agiu de forma expressiva reduzindo a incidência do *F. verticillioides*, chegando a ter controle total do patógeno em alguns testes.

Umas das explicações da falta de controle na incidência do fungo em relação aos extratos de *A. sativum*, *R. officinalis* e *B. uncinella*, pode ser a falta de fixação do extrato na semente, pois quando a semente foi tratada no período de 10 min, em seguida foi feita a imersão da semente com a solução de esporos ( $10^6$  esporos/mL) por um período de 10 min, com este procedimento o extrato pode ter sido “lavado” e ter perdido substâncias importantes para inibição do *F. verticillioides*, favorecendo o crescimento do patógeno nas sementes de milho.

Souza, Araújo e Nascimento (2007), verificaram que o tratamento das sementes de milho empregando os extratos de *A. sativum* e *Cymbopogon citratus*, nas maiores concentrações, propiciou menor incidência de *F. verticillioides*. Mata et al. (2009), obtiveram resultados positivos na inibição dos *Cladosporium* sp., *Curvularia* sp. e *Nigrospora* sp., utilizando óleos essenciais de *Pimpinella anisum* e *Cymbopogon winterianus* em sementes de *Cereus jamacaru*. Além disso, os óleos essenciais promoveram o aumento o poder germinativo das sementes. A utilização de óleos essenciais no uso de sementes de milho crioulo pode ser uma das alternativas que podem usadas para tratamento de sementes.

O efeito eficiente dos óleos essenciais também foi verificado por Santos (2014), onde que os óleos essenciais de *Cymbopogon citratus*, *Eugenia caryophyllus* e *Ocinum basilicum* em

concentrações de 0,5%, reduziram a incidência nas sementes tratadas e não interferiram na qualidade fisiológica das sementes de *Glycine max*.

Silva et al. (2009), em um experimento para se avaliar o efeito de plantas medicinais no controle de *Fusarium oxysporum* em sementes de *Vigna unguiculata*, verificaram que na avaliação da severidade não foram observadas diferenças significativas após 10 dias de avaliação entre os extratos vegetais de *Allium sativum*, *Anadenanthera colubrina* e *Ocimum basilicum* controle do fungo

#### 4.4 AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DA CULTURA E AVALIAÇÃO DAS SEMENTES DA VARIEDADE DE MILHO CRIOULO ASTECA

Através dos resultados obtidos anteriormente, os extratos que foram utilizados no campo que são a *B. trimera* e o *R. officinalis* nas maiores concentrações, apresentaram melhor desempenho na inibição de *F. verticillioides* no crescimento micelial (Tabela 1). O extrato de *A. sativum*, não foi utilizado para o tratamento das sementes no campo devido ao problema do armazenamento encontrado nos testes de germinação das sementes, onde não se pode verificar a eficiência do extrato quanto a germinação das sementes de milho (Tabela 3) e a *B. uncinella* em comparação aos outros testes apresentou baixas características antifúngicas e na avaliação do número de conídios (Figura 3), o extrato favoreceu o aumento da esporulação de *F. verticillioides*.<sup>1</sup>

Segundo Kuhnem Júnior (2013), verificou uma redução da germinação das sementes de milho inoculadas com *F. verticillioides* de 69,57%, concluindo que esse fungo apresenta características patogênicas na semente. Na semeadura foram realizadas parcelas com 35 plantas, sendo que decorrer do experimento houve a redução do *stand* de plantas nos 17 DAS em todos os tratamentos (Tabela 4), portanto, pode-se verificar que houve influência do fungo na redução da germinação das sementes. Nos períodos em que foram realizadas as avaliações dos números de plantas, com os dados obtidos pode-se verificar que não houve diferença entre os tratamentos.

Tabela 4 – Efeito no desenvolvimento das plantas e colmo tratados com Extratos Brutos Aquosos.

Tratamentos	Avaliações de desenvolvimento das plantas e colmo		
	% de plantas 17 DAS**	% de plantas 159 DAS	Nota do colmo
Carbendazim	76,60 a	73,00 a	2,50 a
Testemunha	69,20 a	77,20 a	2,88 a
<i>R. officinalis</i> a 30%	81,80 a	59,80 a	2,60 a
<i>B. trimera</i> a 30%	81,20 a	73,40 a	2,71 a
<b>F</b>	<b>0,905<sup>NS</sup></b>	<b>0,783<sup>NS</sup></b>	<b>0,295<sup>NS</sup></b>
<b>CV%</b>	<b>17,72</b>	<b>27,12</b>	<b>24,72</b>

\*teste F significativo ao nível de 1% de probabilidade. <sup>NS</sup> não significativo

\*\*Dias após a Semeadura (DAS)

Através da escala diagramática proposta por Giglioti e Canteri (1998), foi observado que a maioria das plantas apresentaram manchas de coloração rosa no interior do colmo do primeiro nó acima do solo indicando a presença do fungo *Fusarium verticillioides*. Através das notas do colmo, foi observado que as plantas apresentaram um apodrecimento no colmo causada pelo *Fusarium verticillioides*, sendo que em todos os tratamentos observados não apresentaram diferença significativa.

Através desses resultados, deve-se realizar estudos de métodos para o tratamento de sementes utilizando extratos bruto aquosos de plantas medicinais, como comentado anteriormente, a realização do tratamento, e em seguida a inoculação através da imersão das sementes na suspensão de esporos se retira ou reduz os efeitos do extrato. Uma alternativa é a aplicação do extrato da planta medicinal no solo, assim isso fornecerá uma camada protetora que poderá causar a inibição de diversos fungos fitopatogênicos incluindo *F. verticillioides*.

No momento em que foi realizado a colheita e contabilizado o número de espigas (Tabela 5), observou-se que não houve efeito dos extratos das plantas medicinais e do fungicida. Em todos tratamentos houve a ocorrência de *F. verticillioides* nas espigas, sendo que na grande maioria houve o crescimento do micélio do fungo na superfície das sementes.



Tabela 5 – Número de espigas, presença ou ausência do fungo *Fusarium verticillioides* nas espigas tratadas com extratos brutos aquosos.

Tratamentos	Nº de Espigas Totais	Nº de Espigas Contaminadas	Altura (cm)	Largura (cm)
Carbendazim	18,20 a	7,00 a	12,85 a	3,43 a
Testemunha	15,00 a	8,60 a	11,23 a	3,38 a
<i>R. officinalis</i> a 30%	16,60 a	9,00 a	12,08 a	3,40 a
<i>B. trimera</i> a 30%	18,20 a	6,60 a	12,42 a	3,43 a
<b>F</b>	<b>0,237<sup>NS</sup></b>	<b>0,591<sup>NS</sup></b>	<b>1,375<sup>NS</sup></b>	<b>0,987<sup>NS</sup></b>
<b>CV%</b>	<b>36,75</b>	<b>43,90</b>	<b>10,78</b>	<b>9,3</b>

\*teste F significativo ao nível de 1% de probabilidade. <sup>NS</sup> não significativo

Nas avaliações da massa das sementes, os extratos não tiveram efeito inibitório de forma significativa em relação à testemunha. Porém, quando se avaliou a massa de 100 sementes verificou-se diferenças significativas (Tabela 6), a testemunha (massa de 100 sementes) apresentou 22,65 g, sendo um valor de massa acima dos outros tratamentos, essa diferença pode ter sido causada por fatores ambientais.

Tabela 6 – Massa das sementes de milho Crioulo tratadas com Extratos Brutos Aquoso

Tratamentos	Avaliações das sementes do milho Asteca			
	Massa Total (g)	Massa das sementes sadias (%)	Massa das sementes contaminados (%)	Massa de 100 sementes (g)
Carbendazim	1329,23 a	57,55 a	40,43 a	19,39 b
Testemunha	791,69 a	31,22 a	41,31 a	22,65 a
<i>R. officinalis</i> a 30%	1086,21 a	41,16 a	49,84 a	19,76 b
<i>B. trimera</i> a 30%	987,79 a	49,53 a	28,44 a	18,70 b
<b>F</b>	<b>0,989<sup>NS</sup></b>	<b>0,811<sup>NS</sup></b>	<b>2,059<sup>NS</sup></b>	<b>15,30*</b>
<b>CV%</b>	<b>47,92</b>	<b>62,49</b>	<b>34,27</b>	<b>4,93</b>

\*teste F significativo ao nível de 1% de probabilidade. <sup>NS</sup> não significativo

Na avaliação das sementes, estas foram analisadas através do teste germinação e sanidade, para verificar a presença de *F. verticillioides*. Na tabela 7, observou-se que o fungicida carbendazim, apresentou baixa incidência de *F. verticillioides*, com diferença significativa a 1 % de probabilidade. E os extratos de *R. officinalis* e *R. officinalis* apresentaram 16% de incidência de *F. verticillioides*, embora não foram significativamente diferentes da testemunha.

Tabela 7– Efeito na germinação e incidência de *Fusarium verticillioides* das sementes de milho Crioulo tratadas com extratos brutos aquosos.

Tratamentos	% de Germinação	% de <i>Fusarium</i>
Carbendazim	100 a	4 a
Testemunha	100 a	13 ab
30% Alecrim	95 a	16 b
30% Carqueja	97 a	16 b
<b>F</b>	<b>3,69<sup>NS</sup></b>	<b>8,234</b>
<b>CV%</b>	<b>2,91</b>	<b>36,12</b>

\*teste F significativo ao nível de 1% de probabilidade. <sup>NS</sup> não significativo

Em outros experimentos realizados para avaliar os efeitos das plantas utilizando extratos ou óleos essenciais, Dias-arieira et al. (2010) observaram que o óleo de *Azadirachta indica* foi eficiente em controlar o crescimento micelial de *Colletotrichum acutatum* e também em reduzir a ocorrência de doenças quando aplicado nas flores de morangueiro, diminuindo o abortamento floral.

Medice et al. (2007), para avaliaram o efeito de óleos essenciais na severidade dos sintomas da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) na soja, observou em seu trabalho uma redução na germinação de urediniósporos e da severidade da doença de 34,6 a 60,7% utilizando os óleos de *Thymus vulgaris*, *Corymbia citriodora*, *Cymbopogon nardus* e *Azadirachta indica*.

Segundo Itako et al. (2009), verificaram que em plântulas de tomateiro, houve a redução do número de lesões das folhas causadas por *Cladosporium fulvum* quando foram tratadas com *Achillea millefolium*, *Artemisia camphorata*, *Cymbopogon citratus* e *Rosmarinus officinalis*. Verificando também redução no crescimento micelial, esporulação e da germinação de esporos.

Através dos vários trabalhos apresentados, pôde-se verificar a eficiência tanto de extrato como óleos essenciais derivados de plantas em diferentes patossistemas, tanto em condições *in vitro* como em *in vivo*, no presente trabalho foi evidenciado a eficiência dos extratos testados *in vitro*, porém em condições de inoculação artificial em sementes e em campo essa eficiência não foi verificada no controle de *F. verticillioides*.

## 5 CONCLUSÃO

Os extratos empregados para avaliar o efeito da atividade antifúngica no desenvolvimento do *Fusarium verticillioides*, apresentaram diferenças significativas nos ensaios *in vitro*, pois os mesmos reduziram o crescimento micelial, e os extratos de *Allium sativum* e alecrim favoreceram a inibição do número de conídios *Fusarium verticillioides*.

No experimento com sementes tratadas com os extratos e suas respectivas concentrações verificou-se que a maioria dos extratos não inibiram o crescimento do *Fusarium verticillioides*, com exceção do extrato de carqueja que na concentração de 30% apresentou redução de 25% na incidência do fungo.

No experimento em campo, verificou-se que os extratos de alecrim e carqueja testados nas concentrações de 30%, não apresentaram efeito inibitório do patógeno *Fusarium verticillioides*, sendo que em todo desenvolvimento da cultura desde o número de plantas até a produção de sementes houve a presença do patógeno.

A utilização de extratos brutos aquosos para tratamento de sementes deve ser mais pesquisada, principalmente métodos alternativos de tratamento da semente de milho crioulo, pois o método aplicado através da imersão das sementes na solução de esporos, pode ter removido as propriedades das plantas medicinais e que favoreceu o crescimento do fungo.

A utilização dos extratos de plantas medicinais para fins de uso para tratamento de sementes pode ser uma alternativa para auxiliar a redução de custos da propriedade e aumentar a produtividade da mesma, pois o estado de Santa Catarina é uma região onde existem muitos agricultores familiares e que em sua propriedade realizam o plantio de diversos tipos de sementes crioulas.

## REFERÊNCIAS

- AGROFIT. **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. Disponível em: <[http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acesso em: 06 maio 2015.
- ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. (Ed.). **Métodos em Fitopatologia**. Viçosa: Editora UFV, 2007. 382 p.
- ARAÚJO, P. M.; NASS, L. L. Caracterização e avaliação de populações de milho crioulo. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 59, n. 3, p.589-593, jul./set. 2002.
- BERND, L. P. **Modelagem com ênfase no crescimento de *Fusarium verticillioides* e produção de fumonisinas na perda da qualidade de milho**. 2006. 143 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2006.
- BETTIOL, W. **Controle alternativo**. Disponível em: <[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agricultura\\_e\\_meio\\_ambiente/arvore/CONTA\\_G01\\_23\\_299200692526.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agricultura_e_meio_ambiente/arvore/CONTA_G01_23_299200692526.html)>. Acesso em: 01 maio 2015.
- BONETT, L. P. et al. Extrato etanólico de representantes de cinco famílias de plantas e óleo essencial da família Asteraceae sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* coletados de frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Agroecologia**, [S.l.], v. 7, n. 3, p.116-125, 2012.
- BRASIL. Estabelece o Regulamento Técnico do Milho. **Instrução Normativa Mapa Nº 60 de 22/12/2011**. Brasília
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 399p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Manual de análise sanitária de sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 200p.
- CATÃO, H. C. R. M. et al. Incidência e viabilidade de sementes crioulas de milho naturalmente infestadas com fungos em pré e pós-armazenamento. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 5, p.764-770, maio 2013.
- CONAB. **Acompanhamento da Safra Brasileira: grãos, sétimo levantamento**, abril 2015. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15\\_04\\_10\\_09\\_22\\_05\\_boletim\\_graos\\_abril\\_2015.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_04_10_09_22_05_boletim_graos_abril_2015.pdf)>. Acesso em: 04 maio 2015.
- CRUZ, J. C. et al. (Ed.). **Milho: O produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília: Embrapa, 2011. 338 p.
- DIAS-ARIEIRA, C. R. et al. Atividade do óleo de *Eucalyptus citriodora* e *Azadirachta indica* no controle de *Colletotrichum acutatum* em morangueiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 36, n. 3, p.228-232, 2010.

DILKIN, P. et al. Intoxicação experimental de suínos por fumonisinas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 1, p.175-181, fev. 2004.

FABRI, R.L et al. Potencial antioxidante e antimicrobiano de espécies da família Asteraceae. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [S.l.], v. 13, n. 2, p.183-189, maio 2011.

FIGUEIRA, E. L. Z. et al. Milho: Riscos associados à contaminação por *Fusarium verticillioides* e fumonisinas. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 24, n. 2, p.359-378, 2003.

FONSECA, M. C. M. et al. Potencial de óleos essenciais de plantas medicinais no controle de fitopatógenos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 17, n. 1, p. 45-50, 2015.

GIGLIOTI, E. A.; CANTERI, M. G. Desenvolvimento de Software e escala diagramática para seleção e treinamento de avaliadores da severidade do complexo broca-podridões em cana-de-açúcar. **Fitopatologia Brasileira**, [S.l.], v. 23, n. 3, p.359-363, 1998.

GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; SANTOS, A. F.; AUER, C. G. Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais. **Floresta**, [S.l.], n., p.155-165, 2000.

IARC. **Fumonisina B<sub>1</sub>**. Disponível em: <<http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol82/mono82-7B.pdf>>. Acesso em: 01 maio 2015.

ITAKO, A. T. et al. Atividade antifúngica e proteção do tomateiro por extratos de plantas medicinais. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 33, n. 3, p.241-244, jun. 2008.

ITAKO, A. T. et al. Controle de *Cladosporium fulvum* em tomateiro por extratos de plantas medicinais. **Arquivos do Instituto Biológico**, [S.l.], v. 76, n. 1, p. 75-83, 2009.

KIMATI, H. et al (Ed.). **Manual de Fitopatologia**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. 663 p.

KUHNEM JÚNIOR, P. R. et al. Características patogênicas de isolados do complexo *Fusarium graminearum* e de *Fusarium verticillioides* em sementes e plântulas de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 4, p.583-588, abr. 2013.

LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. **The *Fusarium* Laboratory Manual**. Ames: Blackwell Publishing, 2006.

LONDRES, F. **Agrotóxicos no Brasil: um guia para ação em defesa da vida**. Rio De Janeiro: Assessoria e Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa, 2011. 190 p.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008.

LOUZADA, G. A. S. et al. Potencial antagônico de *Trichoderma* spp. originários de diferentes agroecossistemas contra *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium solani*. **Biota Neotropica**, Campinas, v. 9, n. 3, p.145-149, 2009.

MAGALHÃES, P. C.; SOUZA, T. C. **Cultivo do Milho: Ecofisiologia**. Disponível em: <[http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho\\_8\\_ed/ecofisiologia.htm](http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_8_ed/ecofisiologia.htm)>. Acesso em: 01 maio 2015.

MALLMANN, Carlos A.; SANTURIO, Janio M.; DILKIN, Paulo. Equine leukoencephalomalacia associated with ingestion of corn contaminated with fumonisin B1. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 30, n. 3, p.249-252, set. 1999.

MARCONDES, M.M. et al. Influência de diferentes extratos aquosos de plantas medicinais no desenvolvimento de *Colletotrichum gloeosporioides* e de *Fusarium moniliforme*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 16, n. 4, p.896-904, out./dez. 2014.

MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: VIEIRA, R.D. & CARVALHO, N.M.de. Testes de vigor em sementes. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p.133-149.

MARIJANOVIC, D. R. et al. Immunosuppressive Effects of *Fusarium moniliforme* Corn Cultures in Chickens. **Poultry Science**, [s. l.], v. 70, n. 9, p.1895-1901, 1991.

MATA, M. F. et al. Incidência e controle alternativo de patógenos em sementes de mandacaru (*Cereus jamacaru* DC, *Cactaceae*). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 7, n. 4, p.327-334, out./dez. 2009.

MEDEIROS, E. V.; VIANA, M. G.; ALBUQUERQUE, C. C. Extrato etanólico de *Senna alata* no controle de *Fusarium oxysporum*, causador da murcha-de-fusarium do meloeiro. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola e Ambiental**, Botucatu, v. 16, n. 11, p. 1166-1170, 2012.

MEDICE, R. et al. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 1, p.83-90, jan./fev. 2007.

MILANESI, P. M. et al. Ação fungitóxica de extratos vegetais sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*. **Revista da Fzva**, Uruguaiana, v. 16, n. 1, p.1-13, jan./jun. 2009.

MUNKVOLD, Gary P.. Epidemiology of *Fusarium* diseases and their mycotoxins in maize ears. **European Journal Of Plant Pathology**, [s. l.], v. 109, p.705-713, 2003.

MUNKVOLD, Gary P.; DESJARDINS, Anne E.. Fumonisin in Maize: Can We Reduce Their Occurrence? **Plant Disease**, [s. l.], v. 81, n. 6, p.556-565, jun. 1997.

NORRED, William P.; VOSS, Kenneth A.. Toxicity and Role of Fumonisin in Animal Diseases and Human Esophageal Cancer. **Journal Of Food Protection**, [s. l.], v. 57, n. 6, p.460-546, jun. 1994.

PAES, M. C. D. Aspectos Físicos, Químicos e Tecnológicos do Grão de Milho. **Circular Técnica**, Sete Lagoas, v. 75, p.1-6, 2006.

RAJA, J.; KURUCHEVE, V.. Influence of plant extracts and buffalo urine on the growth and sclerotial germination of *Macrophomina phaseolina*. **Indian Phytopathology**, [S.l.], v. 51, n. 1, p.102-103, 1998.

RODRIGUES, E. et al. Avaliação da atividade antifúngica de extratos de gengibre e eucalipto *in vitro* e em fibras de bananeira infectadas com *Helminthosporium* sp. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 28, n. 1, p.123-127, 2006.

SANDRI, C. A.; TOFANELLI, M. B. D. Milho Crioulo: Uma alternativa de rentabilidade no campo. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 38, n. 1, p.59-61, 2008.

SANTOS, P. L. **Efeito de óleos essenciais sobre o fungo *Phomopsis soja* e a qualidade fisiológica de sementes de soja**. 2014. 51 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2014.

SCAPIN, C.R. et al. Fungitoxidade *in vitro* de extratos vegetais sobre *Exserohilum turcicum* (Pass) Leonard & Suggs. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 12, n. 1, p.57-61, 2010.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R. Extratos e óleos essenciais de plantas medicinais na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L. S. et al. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: Fealq, 2005. Cap. 5, p. 125-138.

SINGH, R.; RAI, B.. Antifungal potential of some higher plants against *Fusarium udum* causing wilt disease of *Cajanus cajan*. **Microbios** 2000, [S.l.], v. 102, n. 403, p.165-173, 1998.

SILVA, J. A. et al. Efeito de extratos vegetais no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp *tracheiphilum* em sementes de caupi. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 2, p.611-616, mar./abr. 2009.

SOARES, A. C. **Milho crioulo conservação e uso da biodiversidade**. Rio de Janeiro: AS-PTA, 1998. 185 p.

SOUZA, A. E. F.; ARAÚJO, E.; NASCIMENTO, L. C. Atividade Antifúngica de Extratos de Alho e Capim-Santo sobre o Desenvolvimento de *Fusarium proliferatum* Isolado de Grãos de Milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 6, p.465-471, dez. 2007.

SPADOTTO, C. A. et al. Monitoramento do risco ambiental de agrotóxicos: princípios e recomendações. **Embrapa Meio Ambiente**, Jaguariúna, p.1-24, 2004.

STADNIK, M. J.; TALAMINI, V. Extratos vegetais e de algas no controle de doenças de plantas. In: STADNIK, M. J.; TALAMINI, V. (Comp.). **Manejo Ecológico de Doenças de Plantas**. Florianópolis: CCA/UFSC, 2004. Cap. 4, p. 45-62.

STANGARLIN, J. R. et al. Plantas Mediciniais: Plantas Mediciniais e Controle Alternativo de Fitopatógenos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, [S.l.], n., p.16-21, 1999.

TANAKA, M. A. S. Sobrevivência de *Fusarium moniliforme* em sementes de milho mantidas em duas condições de armazenamento. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 1, p.60-64, 2001.

TOLEDO, F. F.; MARCOS FILHO, J. **Manual das sementes: tecnologia da produção**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1977. 224 p.

UDRY, C. V.; DUARTE, W. (Org.). **Uma história brasileira do milho: o valor dos recursos genéticos**. Brasília: Paralelo 15, 2000. 136 p.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas Medicinais: Cura Segura? **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 3, p.519-528, jun. 2005.

VENTUROSOSO, L. R. et al. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 37, n. 1, p.18-23, jan. 2011.

VENZON, M.; PAULA JÚNIOR, T. J.; PALLINI, A. **Controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa: Epamig, 2006. 358 p.

VON PINHO, E. V. R. et al. Efeitos do tratamento fungicida sobre a qualidade sanitária e fisiológica de sementes de Milho (*Zea mays* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, [S.l.], v. 17, n. 1, p.23-28, 1995.

WORDELL FILHO, J. A.; ELIAS, H. T. (Org.). **A cultura do Milho em Santa Catarina**. Florianópolis: Epagri, 2010. 480 p.